Práctica 4: Omnipresencia de microorganismos

© Olga Rivas Solano 2026

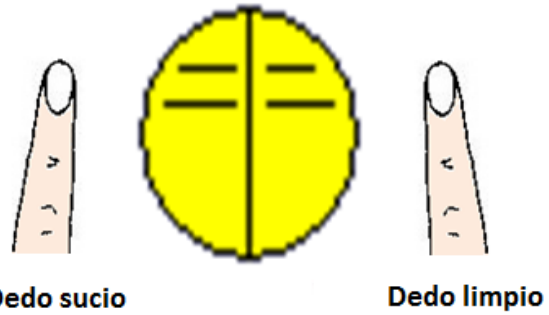
https://metode.es/revistas-metode/secciones/casa-microbios/potencias-de-10.html

Recordatorios cronograma:

La práctica 7 de aislamiento de bacteriófagos, requiere el aislamiento previo de una cepa de *E. coli* que sirva como hospedera para aislar colífagos. **Este aislamiento se va a iniciar hoy!**

Semana N°4 9-13 marzo	Práctica 4.	• Prueba corta. • Indicaciones. • Práctica.	• Realizar prueba corta. • Recibir indicaciones. • Realizar la práctica. • Evaluar resultados luego del periodo de incubación. • Actualizar bitácora.	• Prueba corta.
Semana N°5 16-20 marzo	**V Congreso Institucional: No hay clases**			
Semana N°6 23-27 marzo	Práctica 5.	• Prueba corta. • Indicaciones. • Práctica.	• Realizar prueba corta. • Recibir indicaciones. • Realizar la práctica. • Evaluar resultados luego del periodo de incubación. • Actualizar bitácora.	• Prueba corta.
Semana Santa 30 marzo – 3 abril	No hay clases.			
Semana N°7 6-10 abril	Práctica 6.	• Indicaciones. • Práctica.	• Recibir indicaciones. • Realizar la práctica. • Evaluar resultados luego del periodo de incubación. • Actualizar bitácora. • Entregar informe de la práctica 4.	• Informe práctica 4.
Semana N°8 13-17 abril	**Lunes: I Parcial colegiado, 1:00 pm**	• **Indicaciones.** • **Examen.**	• **Recibir indicaciones.** • **Realizar el examen**	• **I Examen parcial**
	Miércoles y jueves: Práctica 7.	• Indicaciones. • Práctica.	• Recibir indicaciones. • Realizar la práctica.	

1. Muestreo de los dedos: individual



1a. Con un marcador, trazar un línea por la parte de atrás de una placa de ARE para delimitar dos áreas, cada una correspondiente a la mitad de la placa.

1b. Pasar un dedo sucio por la superficie de la mitad de la placa y un dedos limpio por la otra mitad.

1c. Rotular e incubar a 37°C por 24-48 horas.

Es un muestreo que se aplica de rutina en industria, especialmente a operarios de cuartos limpios.

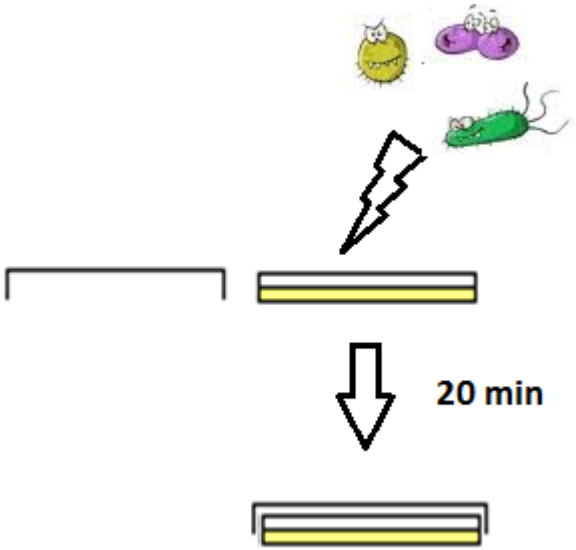
Objetivo

- Comparar la cantidad de bacterias aisladas en dedos sucios y dedos limpios

Medio de cultivo

- ARE: medio para aislar bacterias con bajos requerimientos nutricionales (no es selectivo)

2. Muestreo ambiental: en grupo



2a. Destapar una placa de ARE y otra de PDA por 20 min lejos del mechero.

2b. Tapar, rotular e incubar el ARE a 37° C por 24 horas y el PDA a temperatura ambiente por una semana.

Es un muestreo que se aplica de rutina en industria, pero utilizando equipos especializados.

Objetivo

- Aislar microorganismos aerobios, mesófilicos y heterótrofos que se encuentran en el aire

Medios de cultivo

- PDA: medio especial para hongos. Se le adiciona ácido tartárico o láctico antes de chorrear para inhibir el crecimiento bacteriano

3. Muestreo de superficies: en grupo

3a. Sumergir hisopo en CN

3b. Tomar muestra de una superficie

3c. Rayar placa de PDA con el hisopo

3d. Rotular e incubar a temperatura ambiente por una semana

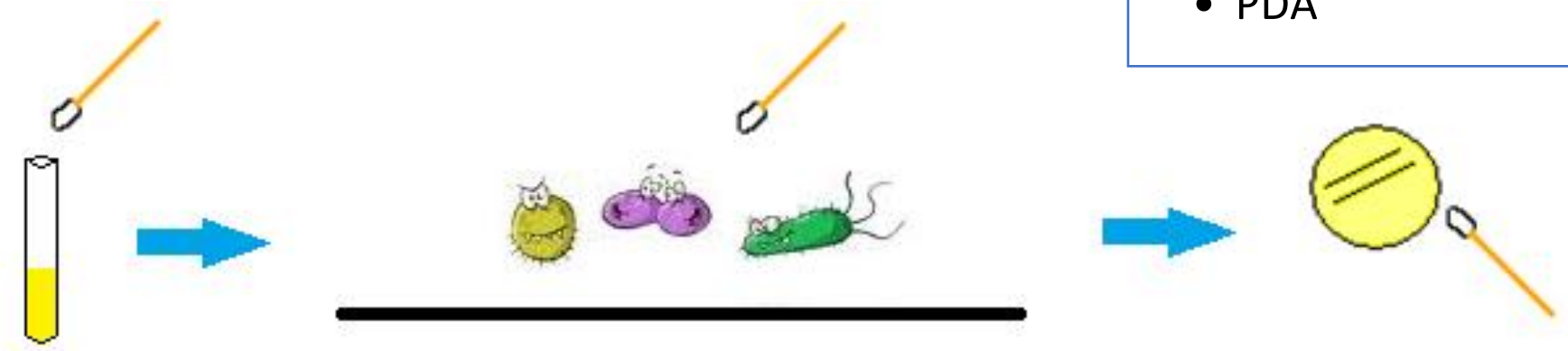
Es un muestreo que se aplica de rutina en industria.

Objetivo

- Aislar hongos aerobios, mesófilicos y heterótrofos que se encuentran en superficies (horizontales)

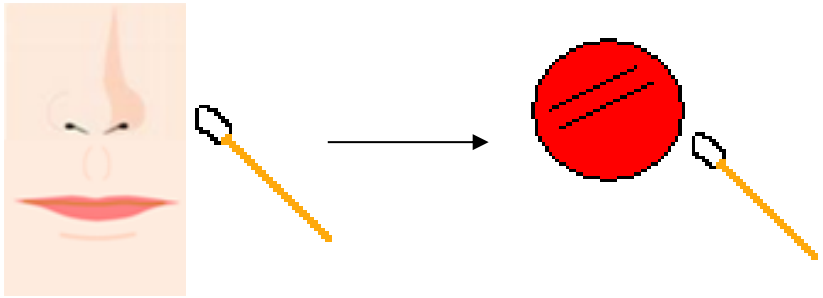
Medio de cultivo

- PDA



4. Muestreo del rostro: individual

Se realizará para estudiar los conceptos de hemólisisis y microbioma.



4a. Sumergir hisopo en CN

4b. Tomar muestra del rostro preferiblemente cerca de la nariz

4c. Rayar placa de AS con el hisopo

4d. Rotular e incubar 24 horas

Objetivo

- Aislar bacterias que se encuentran en el rostro para determinar su capacidad hemolítica

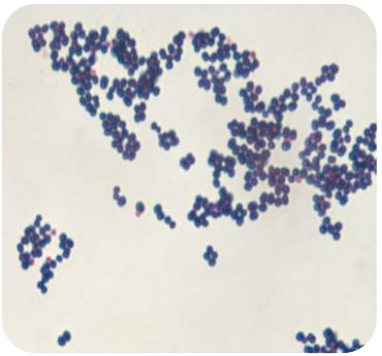
Medio de cultivo

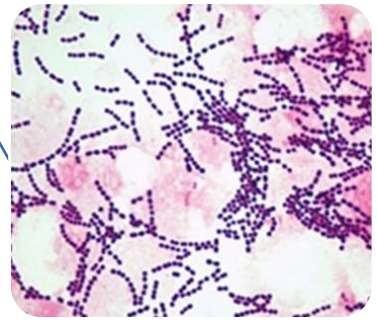
- Agar Sangre

Muestreo del rostro: Bacterias que se pueden aislar

Cocos Gram Positivos

-*Staphylococcus* sp
-*Streptococcus* sp





Abundantes cerca del cabello y la nariz

También son flora normal de piel y garganta respectivamente

Agar Sangre

Definición

- Medio enriquecido con 5% de eritrocitos de carnero. Estos pueden sustituirse por eritrocitos de conejo, caballo, o humanos. Sin embargo, el tamaño de los halos de hemólisis puede variar según la fuente de los eritrocitos.

Tipo de medio

- Diferencial: permite evidenciar la capacidad hemolítica de las bacterias, es decir su capacidad de lisar los eritrocitos para alimentarse de ellos

Preparación

- Se prepara una base de medio general (ATS, ARE, etc.) y se autoclava
- Cuando el medio está a 45 ºC, se le agregan 5ml de sangre desfibrinada (sin coágulos) por cada 100 ml (concentración final: 5%)
- **La temperatura destruye los eritrocitos**

Tipos de hemólisis

Alfa:

Halo verde alrededor de las colonias producto de una hemólisis parcial

Beta:

Halo transparente alrededor de las colonias producto de una hemólisis total

Gamma:

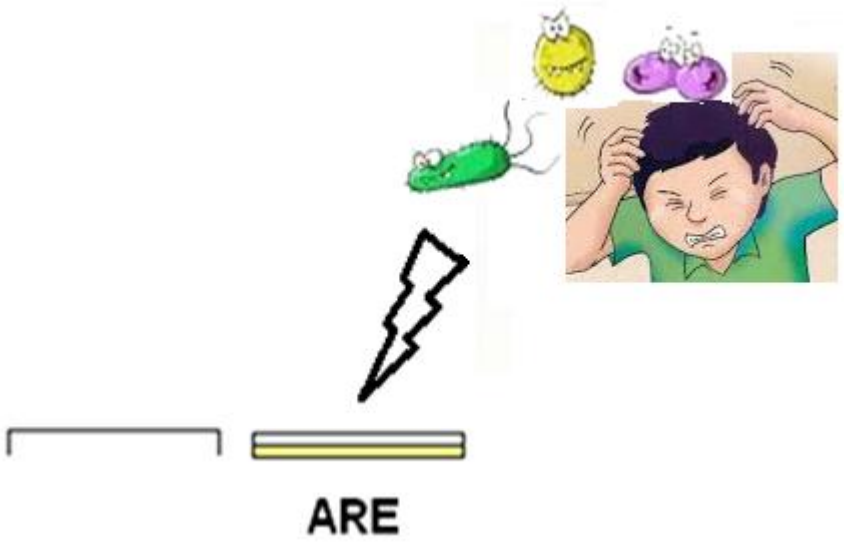
No se produce ningún halo, ya que no hay hemólisis

5. Muestreo de cabellera: en grupo

5.a. Destapar una placa de ARE

5.b. Sacudir la cabellera sobre la placa

5.c. Tapar, rotular e incubar a 37 °C por 24 horas



Se realizará para reforzar el concepto de microbioma.

Objetivo

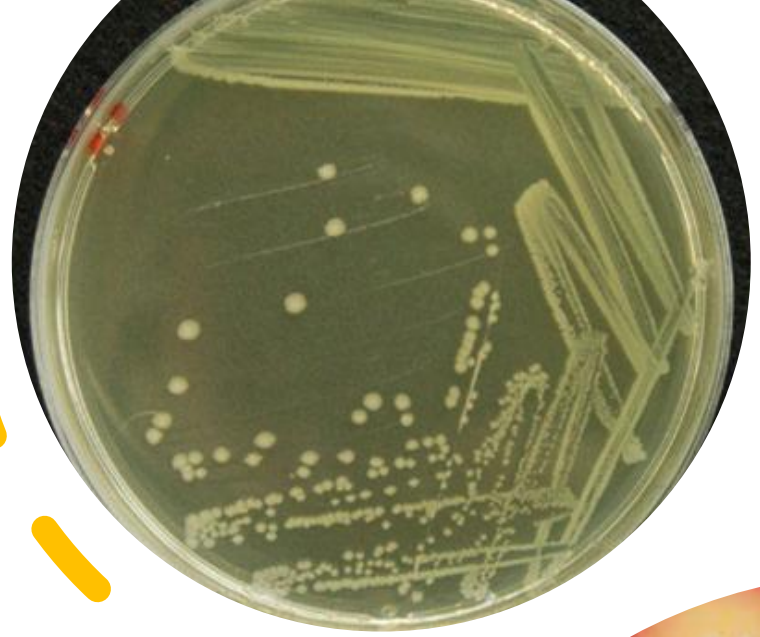
- Aislar microorganismos que se encuentran en el cuero cabelludo y las hebras capilares.

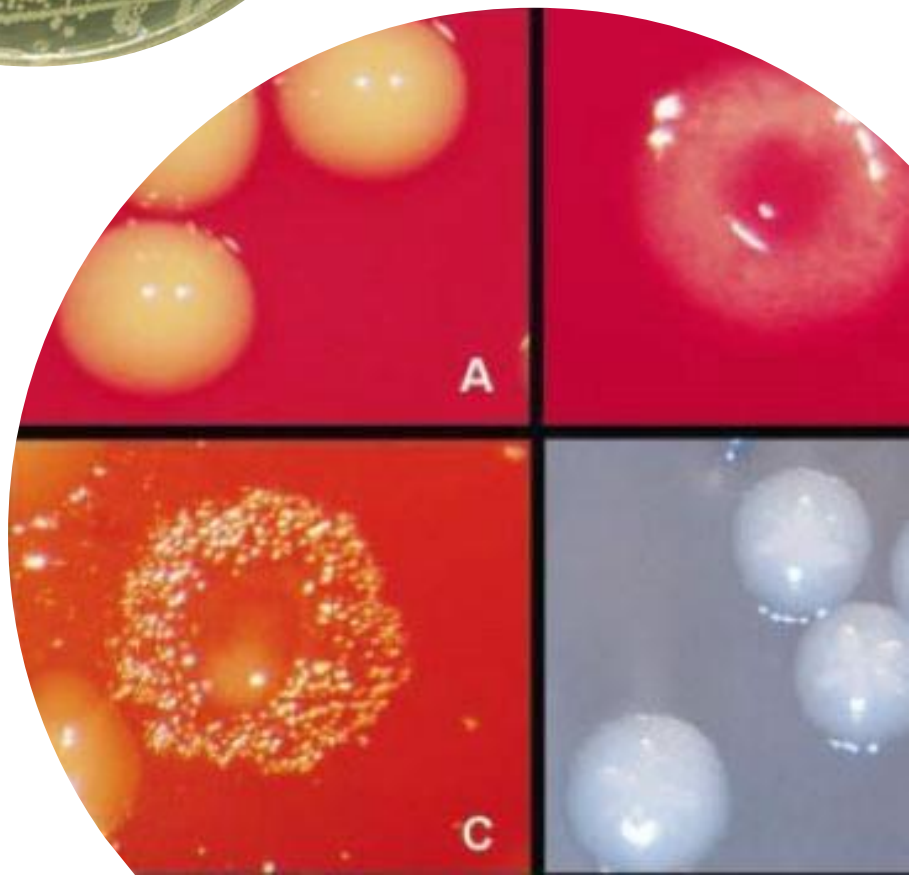
Medio de cultivo

- ARE

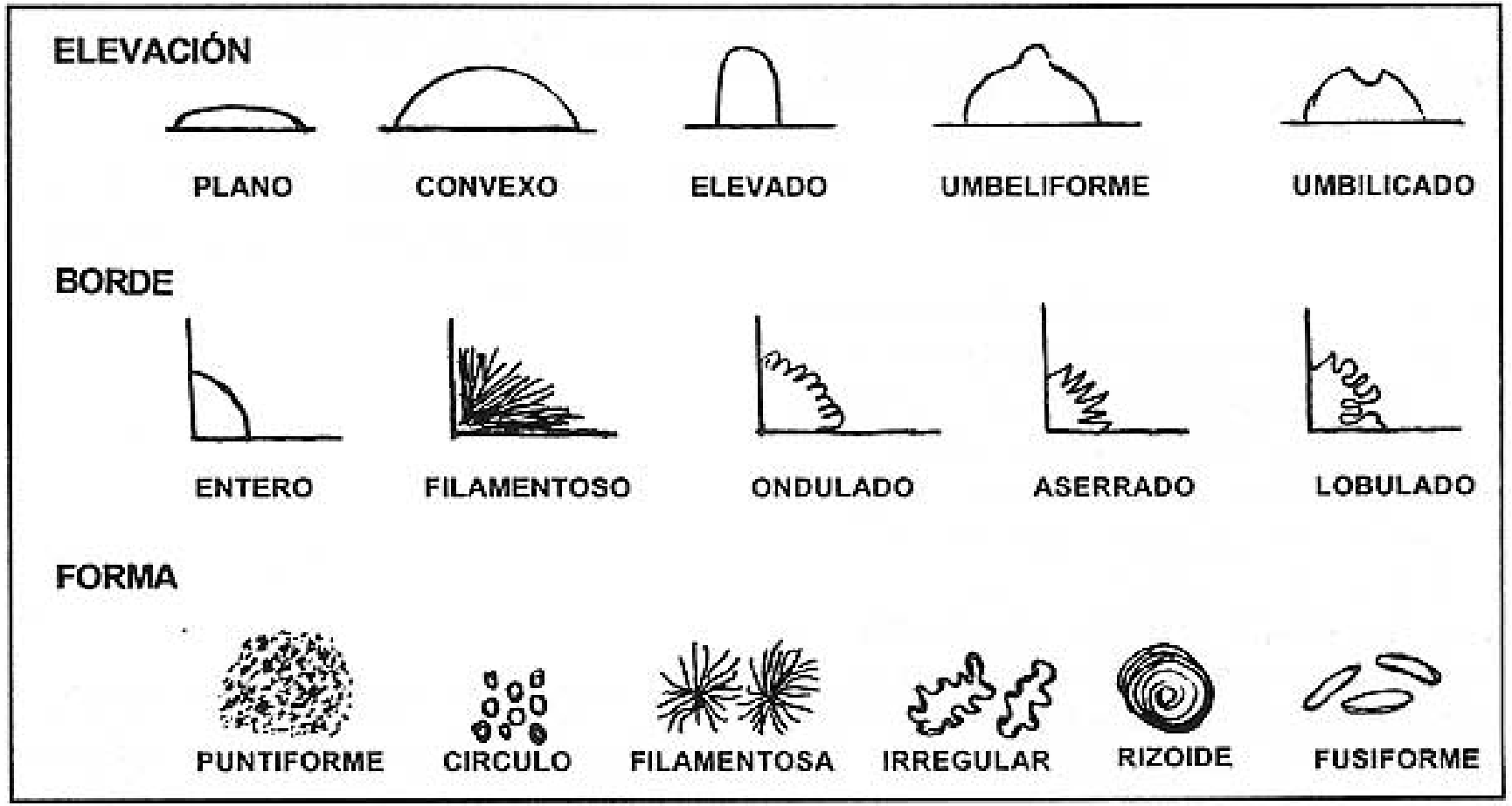
Técnica de rayado

- Para separar y purificar colonias
- El propósito es obtener al menos 10 colonias aisladas
- La superficie del agar tiene que estar bien seca para evitar el esparcimiento y difusión de las colonias
- Permite estudiar la morfología de las colonias y establecer cultivos puros

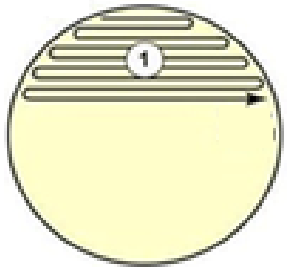




Morfología de las colonias

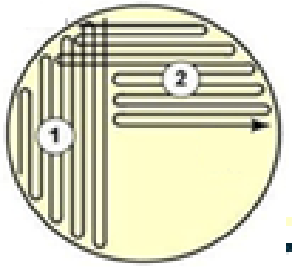


Procedimiento para el rayado



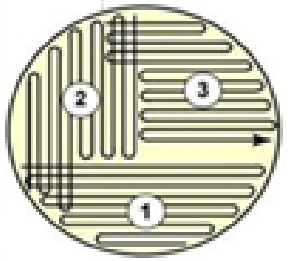
1. Flamear el asa y dejarla enfriar.
2. Usarla para tomar el inóculo y distribuirlo uniformemente en la zona #1.
3. Flamear el asa y dejarla enfriar.

4. Rotar la placa 90 °



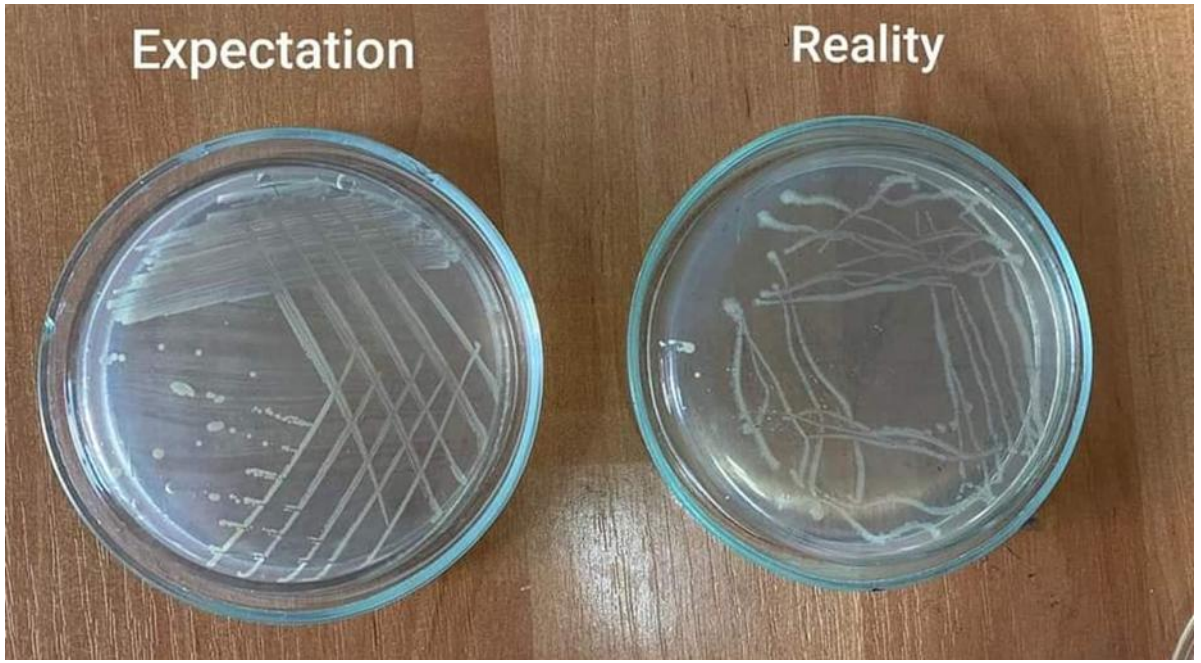
5. Introducir el asa en la zona #1 y extenderla en línea recta hasta el extremo opuesto de la placa.
6. Repetir varias veces.
7. Realizar varios trazos rectos adicionales, sin traslaparse con la zona #1.
8. Flamear el asa y dejarla enfriar.

9. Rotar la placa 90 °



10. Introducir el asa en la zona #2 y extenderla en línea recta hasta el extremo opuesto de la placa.
11. Repetir varias veces.
12. Realizar varios trazos rectos adicionales, sin traslaparse con la zona #1.
13. Flamear el asa y dejarla enfriar.

Practicar, practicar y practicar….



- Al principio, este tipo de resultado es muy común, pero no hay que desanimarse porque el resultado va a ir mejorando con la práctica.

Agar MacConkey

- Selectivo para bacterias Gram negativas: tiene cristal violeta y sales biliares que inhiben a las bacterias Gram positivas
- Diferencial para bacterias fermentadoras de lactosa: tiene el indicador de pH rojo neutro que vira a rojo a pH ácido

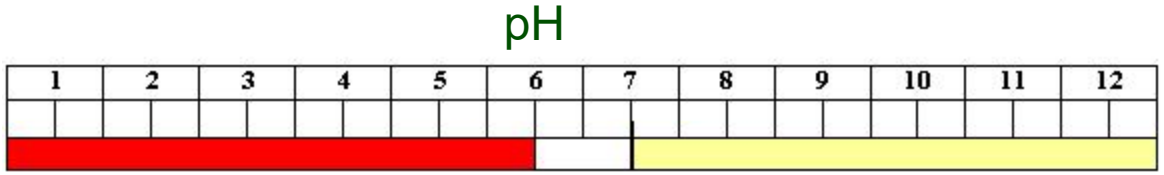
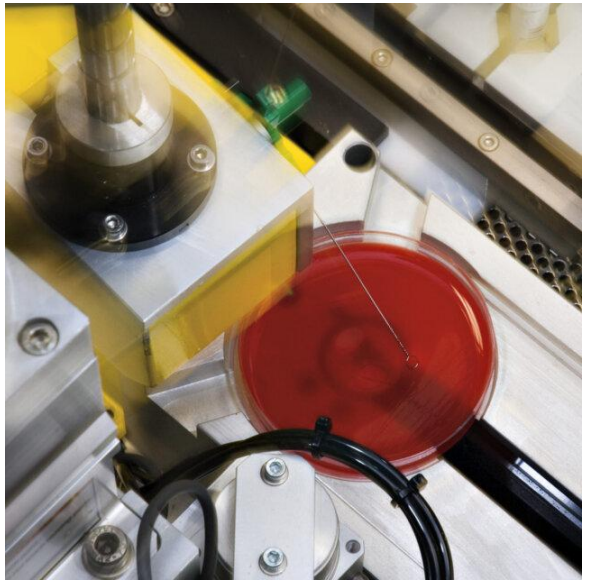


Tabla 1. Sistemas de Siembra automatizada

Nombre del equipo	Fabricante/Proveedor	Tipo de muestra	Técnica de siembra
Inoqula	BD	líquida	perlas magnéticas
Previ- Isola	Bio Merieux	líquida	peineta
WASP	Copan	líquida	asa

https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2015.11.004



https://www.copanusa.com/laboratory-automation/microbiology-laboratory-automation-ai/walk-away-specimen-processor/

Aislamiento de *E. coli* para la práctica 7

- Se utilizará una muestra de agua residual
- Se realizarán 4 diluciones seriadas 1:10 en agua peptonada
- Se realizará una siembra por vaciado de 1 ml de cada dilución en una placa Petri estéril.
- Prepararemos en el momento Agar Bilis Rojo Violeta.
- Se dejará enfriar a la temperatura adecuada para dispensar.
- Se dispensará en las placas Petri que contienen las diluciones. Se agregará primero una capa de aprox.15-20 ml que se mezclará con las diluciones mediante movimientos circulares suaves y se dejará solidificar.
- Posteriormente se agregará una segunda capa delgada de medio que se dejará solidificar.
- Se incubará entre 24-48 horas a 37 °C.

Resultado esperado:

- Transcurrido el tiempo de incubación, se revisan las placas en busca de un resultado similar al de la imagen.
- Se realiza un rayado de purificación en MacConkey y se almacena en refrigeración.
- Las asistentes lo volverán a rayar para que el cultivo esté fresco para el día de la práctica 7.

Repaso de condiciones de incubación de los medios empleados en los diferentes muestreos:

*Valorar a las 24 y a las 48 h

Medio	Tiempo	Temperatura
AS, MC, BRV*	24 h	37 °C
ARE, BRV*	48 h	37 °C
PDA	5-7 días	Ambiente (encima de la incubadora) o a 28°C en incubadora

Lectura puntual de resultados en los siguientes horarios:

Horarios para revisar cultivos que se deben incubar por:

- 24 horas: Jueves 7:45-8:15 am; 11:30-12:00 md y 4:00-4:20 pm (este último es dentro del horario de clase del grupo 04, por lo que se debe hacer de forma rápida y discreta).
- 48 horas: Viernes 8:00-9:00 am.
- Una semana: se revisarán en horario lectivo.

Los viernes al medio día se desechan todas las placas que estén dentro de la incubadora.

Es responsabilidad de cada subgrupo organizarse para realizar una lectura puntual de sus resultados en conjunto con su profesor(a).

Primer informe: comprende la evaluación del atributo de trabajo en equipo

1. Redactar el informe con las partes detalladas en el **anexo 1** del programa del curso, disponible en la carpeta de Documentos del TEC Digital.
2. Enviar, en Word, a más tardar el **miércoles 08 de abril 2026 a las 12 md**, al correo electrónico de su profesor(a) con copia a todos los integrantes del subgrupo:
   grupo 01: orivas@itcr.ac.cr / grupos 02 y 03: vmontero@itcr.ac.cr /
   grupo 04: mirojas@itcr.ac.cr
3. Además, enviar **evidencia de trabajo en equipo.** Puede ser una nota firmada por todos de cómo se organizaron para realizar todas las etapas del trabajo en equipo desde la ejecución del laboratorio, lectura de resultados hasta la redacción y envío del informe.
4. Por último, enviar las rúbricas de auto y coevaluación de forma individual por correo a su respectiv@ profesor@.
5. Ambas se les comunicarán oportunamente por TEC Digital.